



PC/EP04/11236

Ministero delle Attività Produttive

Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività

Ufficio Italiano Brevetti e Marchi

Ufficio G2



**Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per:
INVENZIONE INDUSTRIALE N. MI 2003 A 002019.**

Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali
depositati con la domanda di brevetto sopra specificata, i cui dati
risultano dall'accluso processo verbale di deposito.

ROMA li..... 5. NOV. 2004

IL FUNZIONARIO

..... Giampietro Carlotta

AL MINISTERO DELLE ATTIVITÀ PRODUTTIVE

UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA

DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE, DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO

MODULO A

A. RICHIEDENTE (I)

1) Denominazione **FIDIA FARMACEUTICI S.p.A.**
 Residenza **Abano Terme (Padova)** codice **00204260285**
 2) Denominazione _____
 Residenza _____ codice _____

B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome nome **Bianchetti Giuseppe ed altri** cod. fiscale _____
 denominazione studio di appartenenza **Bianchetti Bracco Minoja s.r.l.**
 via **Rossini** n. **8** città **Milano** cap **20122** (prov) **MI**

C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

via _____ n. _____ città _____ cap _____ (prov) _____

D. TITOLO

classe proposta (sez/cl/sci) _____ gruppo/sottogruppo _____/_____/_____

"Microemulsioni di retinoidi e composizioni farmaceutiche che le contengono"

ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO: SI ☐ NO ☒

SE ISTANZA: DATA ____/____/____ N° PROTOCOLLO _____

E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome **Menegatti Enea** 3) **Esposito Elisabetta**
 1) **Cortesi Rita** 4) **Bellato Pierangelo**

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione	tipo di priorità	numero di domanda	data di deposito	allegato S/R	SCIOGLIMENTO RISERVE Data N° Protocollo
1) _____	_____	_____	____/____/____	<input type="checkbox"/>	____/____/____
2) _____	_____	_____	____/____/____	<input type="checkbox"/>	____/____/____

G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA CULTURE DI MICROORGANISMI, denominazione

H. ANNOTAZIONI SPECIALI

DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.	PROV	n. pag.	riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare)	SCIOGLIMENTO RISERVE Data N° Protocollo
Doc. 1) <input checked="" type="checkbox"/>	PROV	18	disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare)	____/____/____
Doc. 2) <input checked="" type="checkbox"/>	PROV	06	lettera d'incarico, procura o riferimento procura generale	____/____/____
Doc. 3) <input checked="" type="checkbox"/>	RIS		designazione inventore	____/____/____
Doc. 4) <input checked="" type="checkbox"/>	RIS		documenti di priorità con traduzione in italiano	____/____/____
Doc. 5) <input checked="" type="checkbox"/>	RIS		autorizzazione o atto di cessione	____/____/____
Doc. 6) <input checked="" type="checkbox"/>	RIS			confronta singole priorità
Doc. 7) <input checked="" type="checkbox"/>				____/____/____

8) attestati di versamento, totale Euro _____

nominativo completo del richiedente **Duecentonovantuno/80#**

COMPILATO IL **17/10/2003** FIRMA DEL(I) RICHIEDENTE(I) **Bianchetti Giuseppe** obbligatorio
 CONTINUA SI/NO ☒ **SI**

DEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA SI/NO ☒ **SI**

CAMERA DI COMMERCIO IND. ART. E AGR. DI **MILANO** **MILANO** codice **15151**

VERBALE DI DEPOSITO NUMERO DI DOMANDA **MI2003A 002019** Reg. A.

L'anno **DUEMILATRE**, il giorno **DICIASSETTE**, del mese di **OTTOBRE**

il(i) richiedente(i) sopra indicato(i) ha(hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda corredata di n. **01** fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto soprarportato.

I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIALE ROGANTE

IL DEPOSITANTE

Daniele Jash

L'UFFICIALE ROGANTE

M. CORTONESI

A. RICHIEDENTE (I)

4.6.

[illegible]

E. INVENTORI DESIGNATI

соднотм ном

COGNOME NOME

[illegible]

F. PRIORITA

nazione o organizzazione**tipo di priorità****numero di domanda****data di deposito**

**allegato
S/R**

SCIOGLIMENTO RISERVE

Data

N° Protocollo

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257	258	259	260	261	262	263	264	265	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	276	277	278	279	280	281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299	300	301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313	314	315	316	317	318	319	320	321	322	323	324	325	326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340	341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355	356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370	371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400	401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430	431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445	446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460	461	462	463	464	465	466
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

FIRMA DEL (I) RICHIEDENTE (I)

Bianchetti Giuseppe

G. Bianchetti

RIASSUNTO INVENZIONE/CON DISEGNO PRINCIPALE, DESCRIZIONE E RIVENDICAZIONE

NUMERO DOMANDA

MI 2003A002019

REG. A

DATA DI DEPOSITO

17/10/2003

NUMERO BREVETTO

DATA DI RILASCIO

11/11/2003

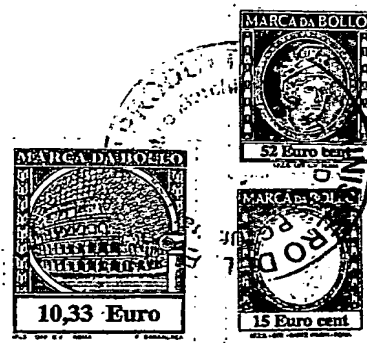
D. TITOLO

"Microemulsioni di retinoidi e composizioni farmaceutiche che le contengono"

L. RIASSUNTO

Vengono descritte microemulsioni acqua in olio (A/O) contenenti come ingrediente attivo un retinoide, un emulsionante fosfolipidico ed eventualmente acido ialuronico o suoi sali.

M. DISEGNO

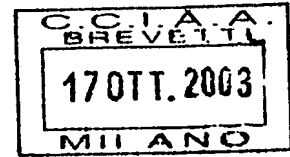


7094 M Descrizione del brevetto per invenzione industriale avente per titolo:

FM/mc "MICROEMULSIONI DI RETINOIDI E COMPOSIZIONI
FARMACEUTICHE CHE LE CONTENGONO"

a nome : FIDIA FARMACEUTICI S.p.A.

con sede in: Abano Terme (Padova)



* * *

La presente invenzione ha per oggetto microemulsioni acqua in olio (A/O) contenenti come ingrediente attivo un retinoide, un emulsionante fosfolipidico ed eventualmente acido ialuronico o suoi sali.

Mil 2003/002019

SFONDO DELL'INVENZIONE

Vengono definiti retinoidi una serie di composti che sono derivati naturali o analoghi sintetici della vitamina A. Il ruolo della vitamina A quale nutriente essenziale fu riconosciuto già nel 1913 e, da allora le ricerche sul prodotto sono state sempre più numerose. Nel 1925 Wolbach e Howe (J. Exp. Med. 42: 753, 1925) descrissero per primi le variazioni istopatologiche epiteliali in condizioni di deficit di vitamina A. Ciò portò all'identificazione del retinolo e di altri analoghi naturali che si cominciarono ad utilizzare, su base esclusivamente empirica, come agenti chemopreventivi della trasformazione neoplastica.

Il ruolo dei retinoidi nella chemoprevenzione oncologica venne sancito con la pubblicazione di vari studi epidemiologici nei quali è stato dimostrato che l'assunzione regolare di vitamina A era significativamente correlata ad una più bassa incidenza di neoplasie soprattutto per quanto riguarda il cancro del polmone (Zeigler R.G. et al., Cancer Causes and Control 7: 157-177, 1996; Krishnan K. et al., Primary Care 25: 361-382, 1998).

Tra i più di 4000 retinoidi fino ad oggi testati, solo alcuni presentano un rapporto di efficacia terapeutica/tossicità favorevole tale da consentirne un uso clinico. La scoperta relativamente recente dei recettori nucleari per l'acido retinoico (che appartengono a due tipi distinti denominati RAR e RXR) ha notevolmente migliorato le conoscenze sui loro meccanismi d'azione.

Numerosi sono stati e sono tuttora i trials clinici con i retinoidi molti dei quali condotti su patologie dermatologiche quali il lichen planus e la leucoplachia che, per la loro elevata frequenza di trasformazione neoplastica vengono considerate a pieno titolo come lesioni precancerose (Hong W et al., N. Engl. J. Med 315: 1501-1505,1986; Lippman S.M et al., N. Engl. J. Med 328: 15-20,1993).

Ad oggi l'uso clinico internazionalmente riconosciuto per i retinoidi riguarda la terapia della leucemia promielocitica acuta e di affezioni dermatologiche a componente iperproliferativa quali l'acne e la psoriasi.

La fenretinide (4-idrossifenilretinamide) è un retinoide semisintetico che è stato sviluppato come agente chemoprotettivo (Costa A. et al., Ann. N.Y. Acad. Sci. 768: 148-162,1995; Pienta K.J. et al., Am. J. Clin. Oncol. 20: 36-39,1997).

A differenza di altri retinoidi naturali quali l'all-trans, il 13-cis- e l'acido 9-cis-retinoico, la fenretinide non induce alcun catabolismo sistemico che possa interferire con il mantenimento per lungo tempo di concentrazioni plasmatiche farmacologicamente utili. Questa caratteristica combinata con la scarsa tossicità del prodotto e la sua capacità di bloccare alcuni fenomeni legati alla carcinogenesi ha permesso di definire il razionale di sviluppo della fenretinide come agente chemoprotettivo in patologie neoplastiche quali il

carcinoma della mammella, della prostata e della vescica.

Altri studi di fase II eseguiti però su un limitato numero di soggetti hanno valutato l'effetto della fenretinide su pazienti affetti da carcinoma prostatico (Pienta K.J. et al., Am. J. Clin. Oncol. 20: 36-39, 1987), da melanoma (Modiano M.R. et al., Invest. New Drugs 8: 317-319, 1990) e sulle sindromi mielodisplastiche (Garewal H.S. et al., Leukemia Res. 13: 339-343, 1989). I risultati di questi studi non sono stati però del tutto incoraggianti; incoraggianti sono stati invece gli studi di chemioprevenzione condotti su pazienti affetti da leucoplachia o da lichen planus, lesioni dermatologiche che frequentemente presentano degenerazione neoplastica (Tradati N. et al., Canc. Letters 76: 109-111, 1994).

In questi casi i pazienti sono stati trattati per via topica con il conseguente probabile raggiungimento, a livello della lesione, di concentrazioni di fenretinide simili, se non superiori, a quelle risultate attive in vitro.

Ad oggi, le formulazioni topiche di retinoidi sono per lo più in forma di creme su base grassa o di gel. DE 19946184 descrive emulsioni di retinoidi caratterizzate da una fase acquosa continua, una fase oleosa viscosa prevalentemente non cristallina e una miscela di emulsionanti. Microemulsioni somministrabili per via parenterale, topica o orale di ingredienti attivi scarsamente idrosolubili sono descritte in WO 99/56727, EP 211258 e in EP 760237.

Non sono disponibili formulazioni topiche di retinoidi in forma di microemulsioni, sistemi dispersi macroscopicamente monofasici, costituiti da almeno tre componenti quali una fase oleosa, una acquosa ed un tensioattivo.

Le principali proprietà chimico-fisiche delle microemulsioni che caratterizzano la loro peculiare struttura sono la trasparenza, l'isotropia e la stabilità termodinamica. Grazie a tali caratteristiche le microemulsioni rivestono un notevole interesse in campo farmaceutico. Infatti:

- (a) la particolare microstruttura delle microemulsioni consente di solubilizzare molecole di diverso carattere chimico-fisico;
- (b) la trasparenza del sistema consente di verificare la completa solubilizzazione dei principi attivi veicolati;
- (c) la stabilità termodinamica comporta importanti vantaggi dal momento che i sistemi ottenuti sono stabili per lunghi periodi di tempo.

Un ulteriore vantaggio legato all'utilizzo topico delle microemulsioni, è la possibilità di aumentare la velocità di penetrazione di principi attivi attraverso lo strato corneo.

È infatti noto che il rilascio dei farmaci risulta molto più rapido mediante l'utilizzo di microemulsioni gel rispetto alle formulazioni convenzionali (Martini M. et al., J. Pharm. Belg. 39, 348-354, 1984; Ziegenmeyers J. et al., Acta Pharm. Technol. 26, 273-275, 1980; Ziegenmeyers J. et al., Deuxième Congrès International de Technologie Pharmaceutique 3, pp. 235-238, 1980).

I fosfolipidi sono stati utilizzati come agenti emulsionanti per la stabilizzazione di microemulsioni: le fosfatidilcoline in un solvente organico (50-250 mM) formano piccole micelle inverse che in seguito all'aggiunta di acqua subiscono una crescita monodimensionale, fino alla formazione di una sorta di rete tridimensionale costituita da un intreccio di strutture cilindriche lunghe e flessibili (Luisi et al., Colloid Polym. Sci. 268, 356-374, 1990).



La presenza dell'acqua porta ad un drastico aumento di viscosità fino alla formazione di un sistema trasparente gelificato la cui viscosità è funzione del contenuto di fase acquosa. Il contenuto di acqua risulta quindi un fattore molto importante nella formazione di queste particolari microemulsioni, ed è espresso dal rapporto tra la concentrazione di acqua e la concentrazione molare di lecitina:

$$[W]/[lec] = [\text{concentrazione molare di acqua}] / [\text{concentrazione molare di lecitina}]$$

Il massimo valore di $[W]/[lec]$ per ogni microemulsione è funzione del tipo di fase organica utilizzata e della concentrazione di lecitina. In genere si ottiene la massima viscosità delle microemulsioni gel a base di lecitina dopo l'aggiunta di meno di 10 molecole di acqua per molecola di lecitina cioè per valori di $[W]/[lec] < 10$.

Le microemulsioni gel a base di fosfatidilcolina di soia possiedono tutte le caratteristiche di trasparenza, stabilità termodinamica ed isotropia tipiche delle microemulsioni (Scartazzini R. et al., J. Phys. Chem. 92, 829-833, 1988; Luisi et al., Colloid Polym. Sci. 268, 356-374, 1990; Lawrence et al., Advanced Drug Delivery Reviews 45, 89-121, 2000).

La fosfatidilcolina è un tenside naturale ed altamente biocompatibile (Dreher et al., Skin Pharmacology 9, 124-129, 1996).

L'acido ialuronico (HA) è un etero-polisaccaride composto da residui alternati di acido D-glucuronico e N-acetil-D-glucosammina. È un polimero a catena lineare con peso molecolare che può variare tra 50.000 e 13×10^6 Da, a seconda della fonte dalla quale viene ottenuto e dai metodi di preparazione impiegati. È presente in natura nei gel pericellulari, nella sostanza

fondamentale del tessuto connettivo degli organismi vertebrati (dei quali rappresenta uno dei componenti principali), nel fluido sinoviale delle articolazioni, nell'umor vitreo e nel cordone ombelicale.

L'HA gioca un ruolo importante nell'organismo biologico, come supporto meccanico delle cellule di molti tessuti come la pelle, i tendini, i muscoli e la cartilagine.

È il principale componente della matrice extracellulare, ma svolge altresì altre funzioni come l'idratazione dei tessuti, la lubrificazione, la migrazione e il differenziamento cellulare.

Per le sue proprietà di bio- e muco-adesività e per le sue caratteristiche di compatibilità tissutale, l'acido ialuronico e i suoi sali, in particolare i sali di sodio, potassio, magnesio e calcio, eventualmente opportunamente frazionati e/o derivatizzati, sono stati proposti come sistemi per il rilascio di farmaci e per la preparazione di presidi chirurgici, impianti, protesi e simili.

DESCRIZIONE DELL'INVENZIONE

Si è ora trovato che è possibile formulare vantaggiosamente i retinoidi in microemulsioni acqua in olio (A/O) per mezzo di emulsionanti fosfolipidici, in particolare fosfatidilcolina di soia e lecitina di soia, eventualmente addizionate di acido ialuronico o suoi sali e frazioni.

Le microemulsioni oggetto dell'invenzione sono dotate di migliorata biodisponibilità rispetto alle formulazioni convenzionali.

La fase oleosa è costituita preferibilmente da esteri alchilici di acidi grassi C₁₀-C₂₂.

L'isopropil palmitato è particolarmente preferito.

Retinoidi che possono essere formulati convenientemente nelle

microemulsioni dell'invenzione comprendono isotretinoina (acido 13-cis-retinoico), tazatarotene e, in particolare, fenretidine.

Si è inoltre sorprendentemente trovato che l'aggiunta alle microemulsioni di acido ialuronico (HA) eventualmente salificato, in particolare di ialuronato sodico, o di derivati di HA consente di incrementare ulteriormente la biodisponibilità dell'ingrediente attivo.

L'HA utilizzato nella presente invenzione può derivare da qualsiasi fonte, ad esempio, per estrazione da creste di gallo (EP 0138572), per via fermentativa (EP 0716688), o per via tecnologica (domanda di brevetto italiana n. PD94A000042) ed avere un peso molecolare compreso tra i 400 e 3×10^6 Da, in particolare tra 400 e 1×10^6 Da, ancor più in particolare tra 400 e 200.000 Da.

I derivati dell'HA che possono essere utilizzati, sono di seguito elencati:

- 1) HA salificato con basi organiche e/o inorganiche di peso molecolare 50-730KDa (EP0138572) o ad alto peso (750-1230 KDa, EP 535200);
- 2) Hyaff: esteri dell'HA con alcoli della serie alifatica, aralifatica, cicloalifatica, aromatica, ciclica ed eterociclica, con una percentuale di esterificazione che può variare a seconda del tipo e della lunghezza dell'alcool usato, (EP 216453);
- 3) Hyadd: ammidi dell'HA con ammine della serie alifatica, aralifatica, cicloalifatica, aromatica, ciclica ed eterociclica, (EP 1095064);
- 4) Derivati O-solfatati dell'HA fino al 4° grado di solfatazione (EP 0702699);
- 5) ACP: esteri interni dell'HA (EP 0341745).

È preferita la frazione nota con la denominazione di Hyalastine, una frazione di acido ialuronico con pesi molecolari compresi tra 50 e 200 kDa.

L'acido ialuronico e i suoi sali agiscono da agenti viscosizzanti e garantiscono migliorate caratteristiche in termini di stabilità e biodisponibilità.

Le microemulsioni dell'invenzione possono inoltre contenere antiossidanti e preservanti quali α -tocoferolo, alchilparabeni ed eventuali altri eccipienti di uso convenzionale.

La percentuale in peso di ingrediente attivo può variare da 0,01% a 0,5%, preferibilmente tra 0,05 e 0,15% mentre la percentuale in peso di lecitina o di fosfatidilcolina è tipicamente compresa tra circa 10 e circa 15%. La fase acquosa costituisce tipicamente da circa lo 0,5 al 2% in peso del totale delle microemulsioni. Lo ialuronato sodico può essere aggiunto come agente viscosante in percentuali in peso comprese tra 0,001 e 0,01%.

Le microemulsioni dell'invenzione possono essere preparate con un processo che comprende l'aggiunta di una soluzione di emulsionante fosfolipidico nella fase oleosa alla soluzione di retinoide nella stessa fase oleosa e la successiva aggiunta di una soluzione acquosa contenente eventualmente l'acido ialuronico, suoi sali o derivati, conservanti, EDCA, ed eventuali altri componenti.

ESEMPI 1-3 Microemulsioni di fenretidine

Metodo di preparazione

Si solubilizza α -tocoferolo in un piccolo volume di Isopropilpalmitato (IPP). Si solubilizza la fosfatidilcolina di soia nel restante volume di isopropilpalmitato a 70°C sotto agitazione fino ad ottenere una soluzione



limpida trasparente.

Si aggiunge quindi il propilparabene e si mantiene l'agitazione fino a totale solubilizzazione.

Dopo raffreddamento della soluzione, si aggiunge la soluzione di α -tocoferolo in Isopropilpalmitato e si miscela sotto blanda agitazione.

Alla soluzione così ottenuta si solubilizza il principio attivo.

Per la preparazione della fase acquosa, si solubilizza il metilparabene in acqua purificata a 80°C. Dopo raffreddamento della soluzione a temperatura ambiente, si solubilizza EDTA tetrasodico e l'acido ialuronico sale sodico sotto agitazione.

Si aggiunge la soluzione acquosa a quella oleosa di Isopropilpalmitato e il sistema ottenuto, inizialmente torbido, viene mantenuto sotto agitazione fino a formazione di un'emulsione limpida trasparente di acquisita viscosità.

Composizioni quali-quantitative

Le composizioni delle microemulsioni ottenute con il metodo sopra indicato e aventi diversi rapporti $[W]/[lec]$, in presenza o meno di ialuronato sodico, sono riportate di seguito:

ESEMPIO 1-IPP2 Hyal ($[W]/[lec]$: 2).

Componente	%p/p	Funzione
Fenretinide	0,05 – 0,10 – 0,15	Principio attivo
Fosfatidilcolina	14,756	Tensioattivo
Isopropilpalmitato	q.b. a 100	Fase oleosa
Acqua purificata	0,7644	Fase acquosa
Acido ialuronico sale sodico (fraz. Hyalastine)	0,0072	Agente viscosante
α -Tocoferolo	0,10	Antiossidante

ESEMPIO 2-IPP3C Hyal ([W]/[lec] : 3).

Componente	%p/p	Funzione
Fenretinide	0,05 – 0,10 – 0,15	Principio attivo
Fosfatidilcolina	14,567 – 14,560 – 14,553	Tensioattivo
Isopropilpalmitato	q.b. a 100	Fase oleosa
Acqua purificata	1,1107 – 1,1102 – 1,1096	Fase acquosa
Acido ialuronico sale sodico (fraz. Hyalastine)	0,0108	Agente viscosante
α-Tocoferolo	0,10	Antiossidante
Metilparabene	0,00162	Conservante
Propilparabene	0,000215	Conservante
EDTA tetrasodico	0,00108	Complessante

ESEMPIO 3-IPP3C' Hyal ([W]/[lec] : 3).

Componente	%p/p	Funzione
Fenretinide	0,05 – 0,10 – 0,15	Principio attivo
Fosfatidilcolina	14,567 – 14,560 – 14,553	Tensioattivo
Isopropilpalmitato	q.b. a 100	Fase oleosa
Acqua purificata	1,109 – 1,108 – 1,1096	Fase acquosa
Acido ialuronico sale sodico (fraz. Hyalastine)	0,0108	Agente viscosante
α-Tocoferolo	0,10	Antiossidante
Metilparabene	0,00216	Conservante
Propilparabene	0,01684	Conservante
EDTA tetrasodico	0,00108	Complessante

ESEMPIO 4: Caratterizzazione reologica

Allo scopo di caratterizzare le microemulsioni gel prodotte, sono state

effettuate misure di viscosità dinamica; in particolare, sono state condotte misure di viscosità applicando valori crescenti di gradiente di scorrimento (shear rate), da cui sono stati estrapolati i valori di viscosità a shear rate pari a 70 s^{-1} (misure condotte a 25°C).

La figura 1 riporta l'andamento della viscosità delle microemulsioni gel a base di Isopropilpalmitato (IPP) a concentrazione del principio attivo (Fenretinide) pari a 0,05 %p/p, in funzione del contenuto di acqua ($[W]/[lec]$ pari a 1, 2 e 3).

La viscosità delle microemulsioni gel IPP1 ($[W]/[lec]$ pari a 1) e IPP2 ($[W]/[lec]$ pari a 2) si ritiene essere troppo bassa; si ritiene invece che le microemulsioni gel aventi buone caratteristiche di viscosità e consistenza per un'applicazione topica siano le IPP3, ovvero quelle rappresentate dal contenuto in acqua espresso dal rapporto $[W]/[lec]$ pari a 3.

La figura 2 riporta l'andamento della viscosità delle microemulsioni gel a base di Isopropilpalmitato (IPP) a medesimo rapporto $[W]/[lec]$ (pari a 3) e concentrazione del farmaco Fenretinide (0,05%), ma a diversa composizione quali-quantitativa e contenenti Acido Ialuronico sale sodico (fraz. Hyalastine) come agente viscosante al fine del raggiungimento delle caratteristiche di viscosità e di consistenza ritenute ottimali per gli usi previsti.

La figura 3 riporta l'andamento della viscosità della microemulsione ritenuta prototipo IPP3C', in funzione della concentrazione di fenretinide (4HPR), in cui si osservano caratteristiche di viscosità e di consistenza leggermente inferiori all'aumentare del dosaggio di fenretinide.

ESEMPIO 5: Cinetiche di diffusione della fenretinide

È stato condotto uno studio "in vitro" allo scopo di confrontare la

cinetica di diffusione o di permeazione (attraverso membrana) della fenretinide da microemulsioni prodotte con quella da formulazioni convenzionali quali l'“unguento base al cetomacrogol” e la “crema base grassa al cetomacrogol” descritte nella Farmacopea Ufficiale Italiana, ed. corrente.

Per studiare le cinetiche di diffusione della fenretinide dalle diverse formulazioni, sono state utilizzate “celle di diffusione di Franz” associate ad una membrana di cellulosa.

La cella è costituita da due sezioni di vetro sovrapposte. Il diametro interno della cella è di 1 cm (pari a un'area di $0,78 \text{ cm}^2$).

Nella sezione superiore è stata posta la formulazione contenente la fenretinide mentre quella inferiore è stata riempita con la fase ricevente, costituita da metanolo, e mantenuta sotto costante agitazione, mediante una sbarretta magnetica posta alla base della cella.

Tra le due sezioni è stata posta la membrana precedentemente umidificata con la fase ricevente. Le due sezioni della cella sono state assemblate facendo attenzione ad evitare la formazione di bolle d'aria. Tutti gli esperimenti sono stati eseguiti nelle stesse condizioni: al riparo dalla luce alla temperatura di 25°C , termostatando la sezione inferiore a 32°C utilizzando 4 celle in parallelo.

Sono stati prelevati campioni di fase ricevente ad intervalli di tempo prestabiliti (da 30 minuti a 8 ore) per mezzo di una siringa dotata di un tubo flessibile in teflon, ogni campione è stato quindi rimpiazzato con un uguale volume di fase ricevente.

I campioni sono stati analizzati per il loro contenuto di fenretinide



mediante cromatografia HPLC in fase inversa. Dai risultati dell'analisi cromatografica sono state calcolate le quantità totali di fenretinide rilasciate per unità di area ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$).

Le analisi sono state ripetute quattro volte per ciascuna formulazione. Sono stati quindi calcolati i valori medi e riportati in grafico in funzione del tempo espresso in ore.

I punti sperimentali sono stati interpolati con un calcolo di regressione lineare, ottenendo rette del tipo " $y=mx + q$ ". Il coefficiente angolare " m ", che rappresenta la pendenza della retta, corrisponde al flusso sperimentale " J_s ".

È noto che $J_s = C \times J_n$; dove C è la concentrazione del farmaco espressa in mg/ml.

Dal momento che la concentrazione della fenretinide in tutte le formulazioni analizzate era pari a 1 mg/ml, " J_s " risulta uguale a " J_n ". " J_n " rappresenta il coefficiente di diffusione cioè il flusso con cui il farmaco permea attraverso la membrana.

La Figura 4 riporta le cinetiche di diffusione o di permeazione della fenretinide (velocità di assorbimento) da microemulsioni gel IPP3C e IPP3C' (senza Acido Ialuronico sale sodico, fraz. Hyalastine), in confronto a quella da formulazioni convenzionali ("unguento base al cetomacrogol" e la "crema base grassa al cetomacrogol"): i coefficienti angolari delle rette ottenute, rappresentano i valori del coefficiente di diffusione " J_n ".

La Figura 5 riporta le cinetiche di diffusione o di permeazione della fenretinide (velocità di assorbimento) dalle stesse microemulsioni gel contenenti acido ialuronico sale sodico (fraz. Hyalastine), in confronto a quella da formulazioni convenzionali ("unguento base al cetomacrogol" e la

“crema base grassa al cetomacrogol”).

La Figura 6 riporta le cinetiche di diffusione o di permeazione della fenretinide (velocità di assorbimento) dalle microemulsioni gel del tipo IPP3C e IPP3C' contenenti o non acido ialuronico sale sodico (fraz. Hyalastine).

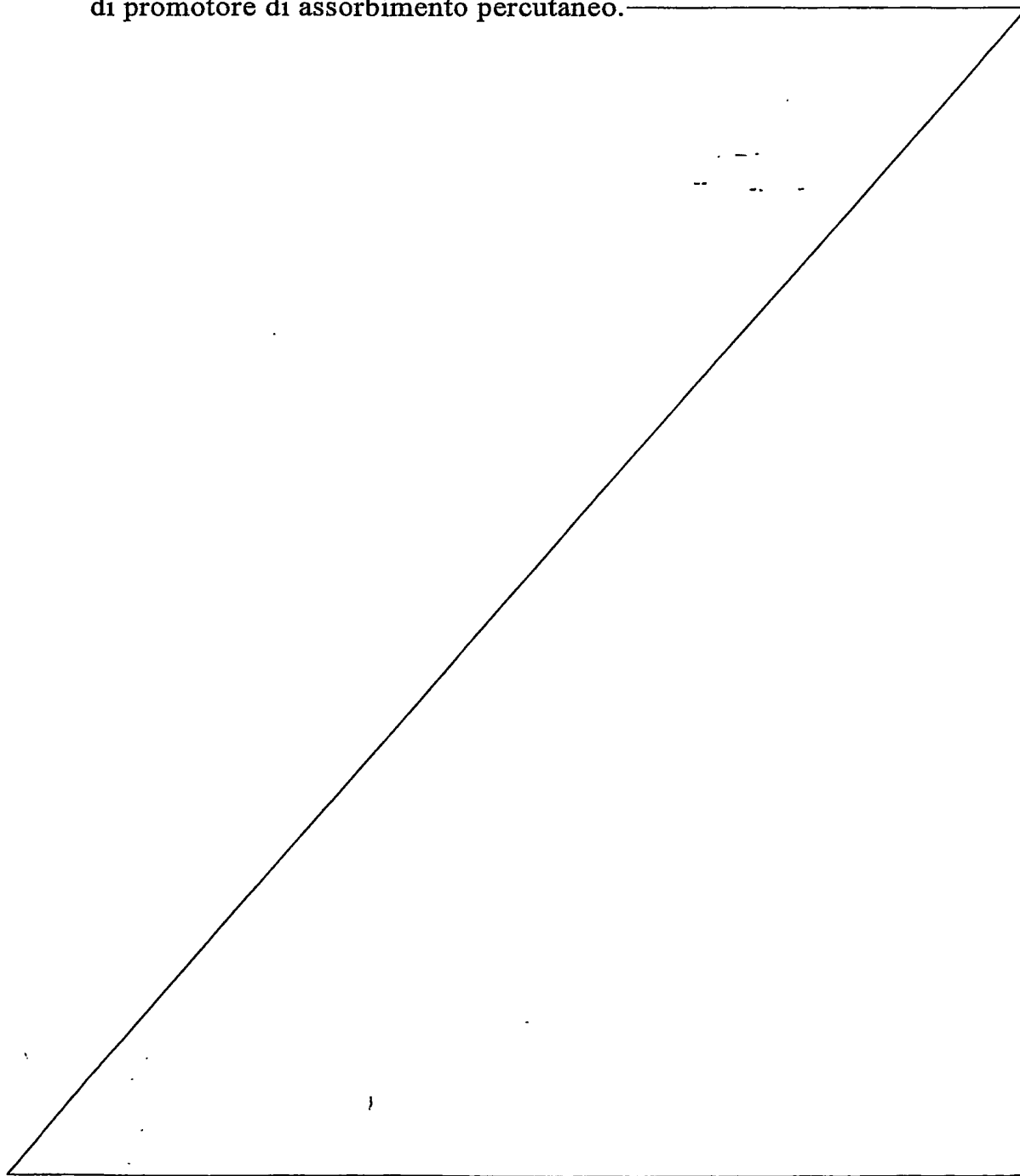
I coefficienti di diffusione (o di permeazione o di assorbimento) “J_n” della fenretinide veicolata come microemulsioni gel del tipo IPP3 ([W]/[lec] pari a 3), in assenza e presenza di Acido ialuronico sale sodico (fraz. Hyalastine) e come formulazioni convenzionali sono riportati nella seguente Tabella:

Formulazione	Fenretinide (%p/v)	J _n (µg/cm ² /h)	log J _n
Unguento base F.U	0,1	0,15	-0,82
Crema base A/O F.U.	0,1	0,50	-0,3
IPP 3 C	0,1	13,43	1,12
IPP 3 C HYAL	0,1	18,47	1,26
IPP 3 C'	0,1	10,22	1,00
IPP 3 C' HYAL	0,1	16,19	1,20

Dai risultati sperimentali ottenuti, si possono trarre le seguenti conclusioni:

- La cinetica di diffusione o di permeazione (velocità di assorbimento) della fenretinide veicolata come microemulsione gel a base di fosfolipidi (fosfatidilcolina di soia) risulta notevolmente aumentata rispetto a quella del farmaco veicolato in formulazioni convenzionali (unguento o crema A/O); i coefficienti di diffusione “J_n” della fenretinide veicolata come microemulsione gel risultano infatti notevolmente superiori rispetto a quelli ottenuti con unguento (circa 79 volte superiori) e/o crema A/O (circa 24 volte superiori)

- La cinetica di diffusione o di permeazione (velocità di assorbimento) della fenretinide veicolata come microemulsione gel a base di fosfolipidi (fosfatidilcolina di soia) viene sorprendentemente nettamente aumentata dalla presenza nella formulazione di Acido ialuronico sale sodico (fraz. Hyalastine), che esplica pertanto un effetto di promotore di assorbimento percutaneo.



RIVENDICAZIONI

1. Microemulsioni acqua in olio (A/O) contenenti come ingrediente attivo un retinoide e un emulsionante fosfolipidico.
2. Microemulsioni secondo la rivendicazione 1 in cui l'emulsionante fosfolipidico è scelto fra fosfatidilcolina di soia e lecitina di soia.
3. Microemulsioni secondo la rivendicazione 1 o 2 in cui la fase oleosa è costituita da esteri alchilici di acidi grassi C₁₀-C₂₂.
4. Microemulsioni secondo la rivendicazione 3 in cui la fase oleosa è costituita da isopropil palmitato.
5. Microemulsioni secondo una o più delle rivendicazioni precedenti in cui il retinoide è scelto fra isotretinoina (acido 13-cis-retinoico), tazatarotene, fenretidine.
6. Microemulsioni secondo la rivendicazione 5 in cui il retinoide è fenretidine.
7. Microemulsioni secondo una o più delle rivendicazioni precedenti, contenenti inoltre ialuronato sodico.
8. Microemulsioni secondo una o più delle rivendicazioni precedenti contenenti un derivato di acido ialuronico scelto fra:
 - HA salificato con basi organiche e/o inorganiche di peso molecolare 50-730KDa o ad alto peso (750-1230 KDa);
 - esteri dell'HA con alcoli della serie alifatica, aralifatica, cicloalifatica, aromatica, ciclica ed eterociclica;
 - ammidi dell'HA con ammine della serie alifatica, aralifatica, cicloalifatica, aromatica, ciclica ed eterociclica;
 - derivati O-solfatati dell'HA fino al 4° grado di solfatazione;



- esteri interni dell'HA.

9. Microemulsioni secondo una o più delle rivendicazioni precedenti, contenenti inoltre antiossidanti e preservanti.
10. Microemulsioni secondo la rivendicazione 9, contenenti α -tocoferolo e parabeni.
11. Composizioni farmaceutiche comprendenti le microemulsioni delle rivendicazioni 1-10.
12. Uso delle microemulsioni delle rivendicazioni 1-10 per la preparazione di medicinali ad attività chemioprotettiva.
13. Processo per la preparazione delle microemulsioni delle rivendicazioni 1-10 che comprende l'aggiunta di una soluzione di emulsionante fosfolipidico nella fase oleosa alla soluzione di retinoide nella stessa fase oleosa o la successiva aggiunta di una soluzione acquosa contenente eventualmente l'acido ialuronico, suoi sali o derivati, conservanti, EDTA ed eventuali altri componenti.

Milano, 17 ottobre 2003

Il Mandatario
(Bianchetti Giuseppe)
di Bianchetti Bracco Minoja S.r.l.

G. Bianchetti

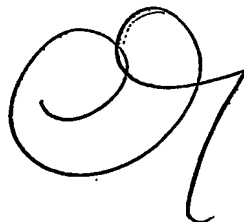
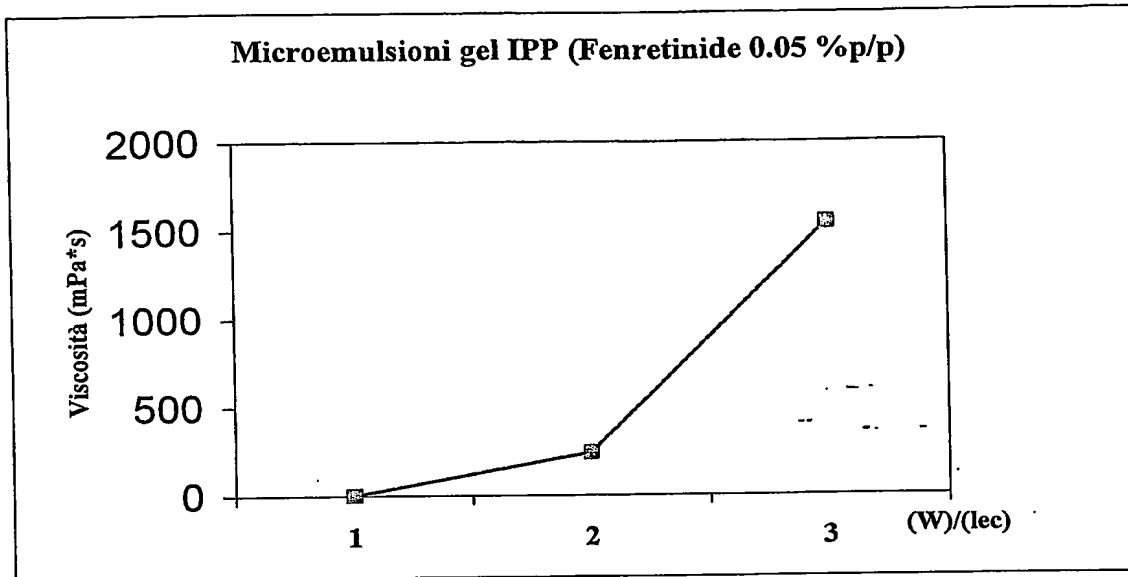


FIGURA 1



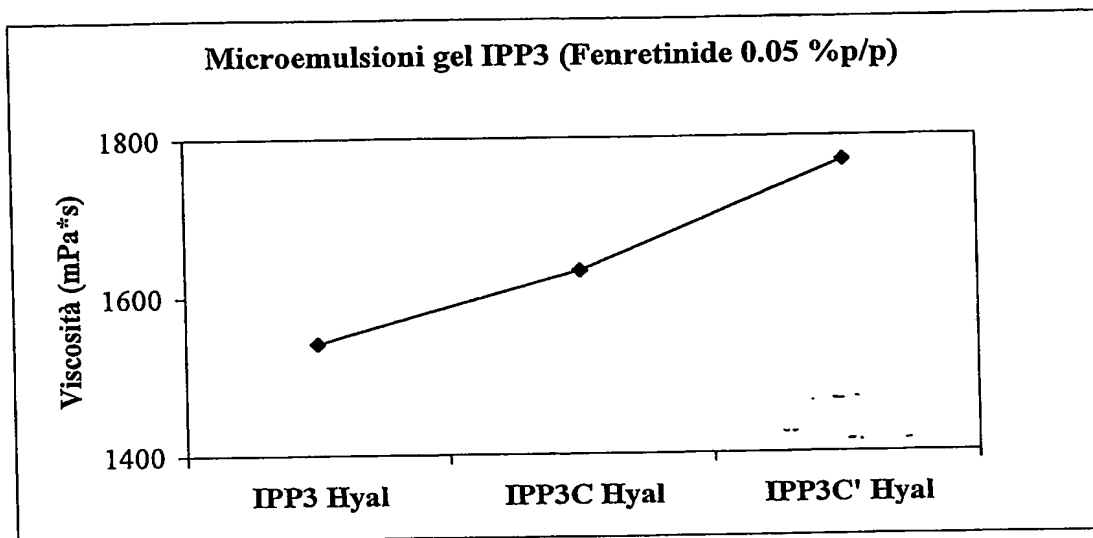
MI 20034002019.

Il Mandatario
(Bianchetti Giuseppe)
di Bianchetti Bracco Minoja S.r.l.

G. Bianchetti



FIGURA 2



MI 0003 002019.

Il Mandatario
(Bianchetti Giuseppe)
di Bianchetti Bracco Minoja S.r.l.

G. Bianchetti

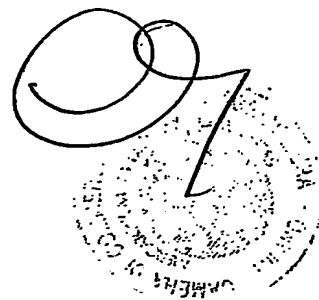
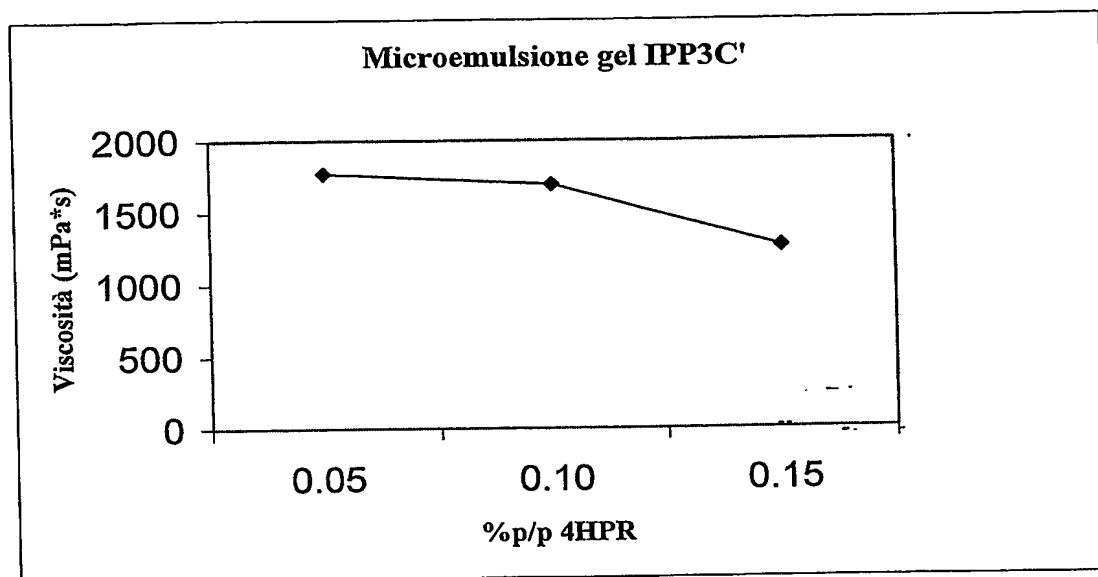


FIGURA 3



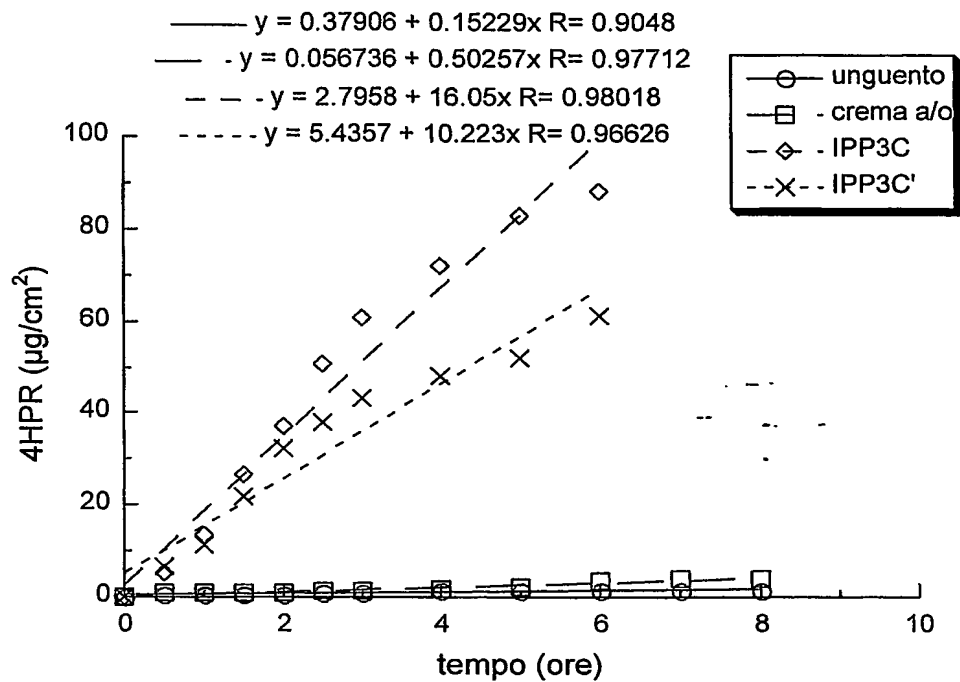
MI 10034002019

Il Mandatario
(Bianchetti Giuseppe)
di Bianchetti Bracco Minoja S.r.l.

G. Bianchetti



FIGURA 4



MI 200340020191

Il Mandatario
(Bianchetti Giuseppe)
di Bianchetti Bracco Minoja S.r.l.
G. Bianchetti

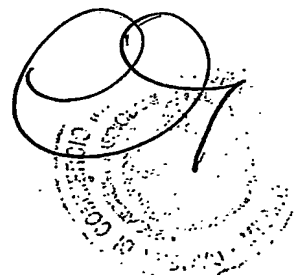
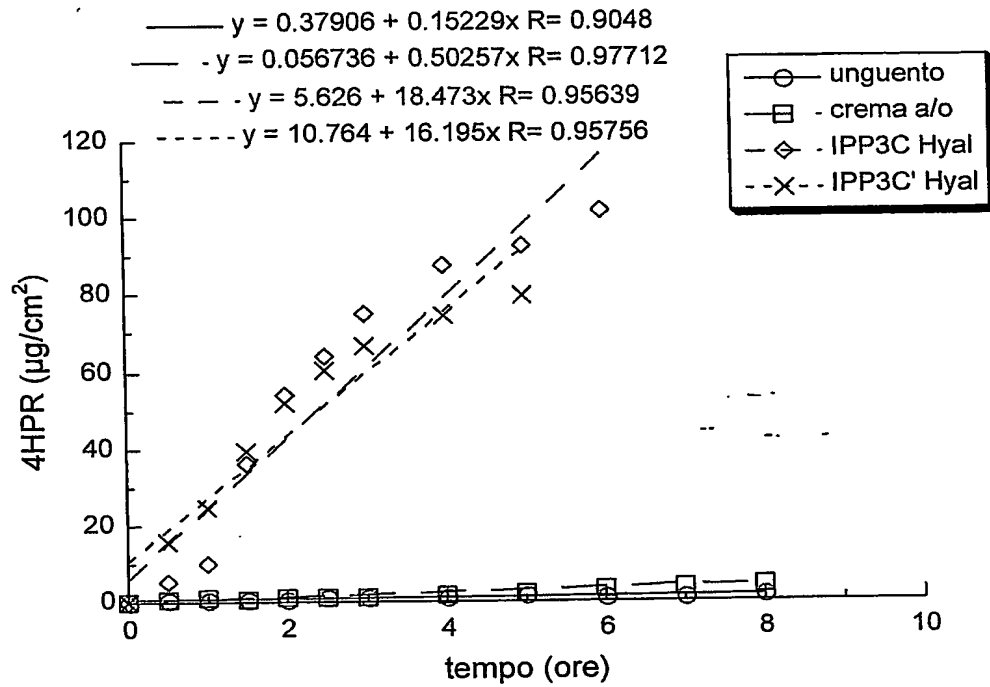


FIGURA 5



MI 20034002019

Il Mandatario
(Bianchetti Giuseppe)
di Bianchetti Bracco Minoja S.r.l.

G. Bianchetti

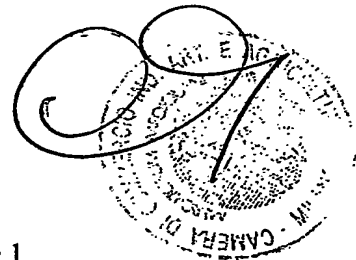
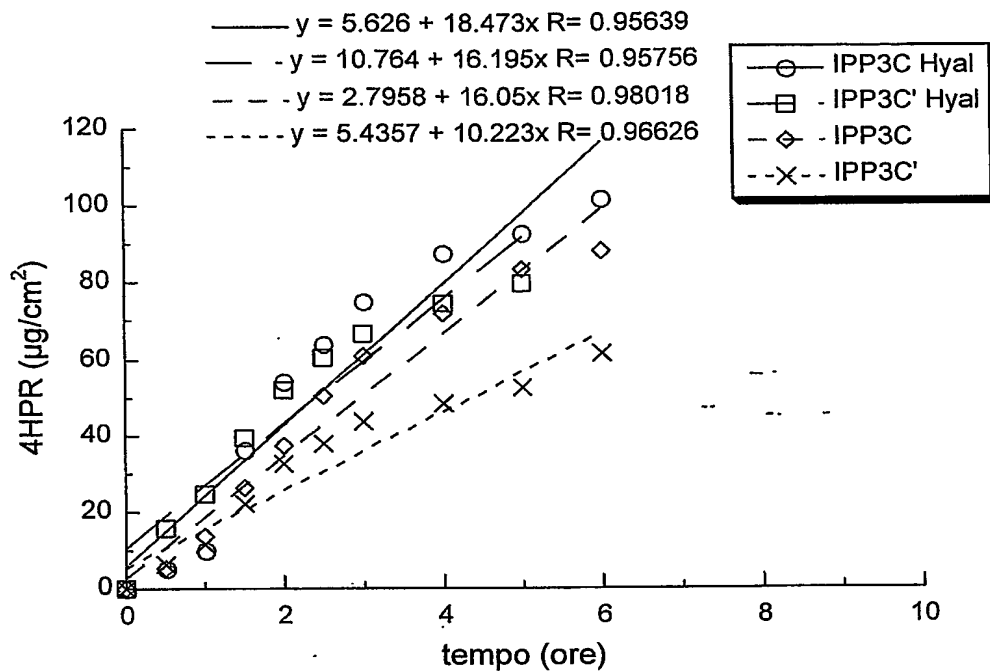


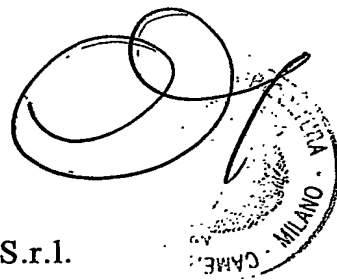
FIGURA 6



MI 2003 A002019

Il Mandatario
(Bianchetti Giuseppe)
di Bianchetti Bracco Minoja S.r.l.

G. Bianchetti



Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP04/011236

International filing date: 08 October 2004 (08.10.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: IT
Number: MI2003A002019
Filing date: 17 October 2003 (17.10.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 25 January 2005 (25.01.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse